

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

ÜBER DIE POSITIV INOTROPE WIRKUNG VON
CYCLISCHEM DIBUTYRYL - 3', 5' - AMP AN
ISOLIERTEN VORHOFS - UND VENTRIKELPRÄPARATEN
VERSCHIEDENER WARMBLÜTERSPEZIES.

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz, den
Medizinischen Fachbereichen vorgelegt von

Klaus Winter

aus Glanbrücken

Mainz 1973

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

ÜBER DIE POSITIV INOTROPE WIRKUNG VON
CYCLISCHEM DIBUTYRYL - 3', 5' - AMP AN
ISOLIERTEN VORHOFS - UND VENTRIKELPRÄPARATEN
VERSCHIEDENER WARMBLÜTERSPEZIES.

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz, den
Medizinischen Fachbereichen vorgelegt von

Klaus Winter
aus Glanbrücken

Mainz 1973



Fachbereichsdekan: Professor Dr.P.Klein

Referent: Professor Dr.H.Scholz

Korreferent: Professor Dr.K.J.Netter

INHALTSVERZEICHNIS

<u>A. EINLEITUNG</u>	Seite 1
<u>B. METHODE</u>	3
Versuchspräparate	3
Lösungen und Substanzen	7
Versuchsablauf	8
Auswertung	8
<u>C. ERGEBNISSE</u>	10
Wirkung von DB-c-AMP an Vorhofs- präparaten verschiedener Warmblü- terspezies	10
Wirkung von DB-c-AMP an Ventrikel- präparaten verschiedener Warmblü- terspezies	19
Wirkung von DB-c-AMP auf verschie- dene muskelmechanische Parameter	27
<u>D. DISKUSSION</u>	28
<u>E. ZUSAMMENFASSUNG</u>	31
<u>F. LITERATURVERZEICHNIS</u>	32

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

c-AMP	: Cyclisches Adenosin-3',5'- monophosphat
DB-c-AMP	: Cyclisches N ⁶ -2'-O-dibutyryl- adenosin-3',5'-monophosphat
PDE	: Phosphodiesterase
M, mM	: molar (=Mol/l), millimolar
kg, g, mg	: Kilogramm, Gramm, Milligramm
cm, mm	: Zentimeter, Millimeter
min, sec, msec	: Minute, Sekunde, Millisekunde
l, ml	: Liter, Milliliter
Hz	: Hertz = Impulse pro Sekunde
m, w	: männlich, weiblich
li, re Ve	: linker, rechter Ventrikel
li VH	: linker Vorhof
FG	: Feuchtgewicht
TG	: Trockengewicht

A. EINLEITUNG

Es wird angenommen, daß die positiv inotrope Wirkung von Adrenalin durch eine Erhöhung des intrazellulären Gehaltes an cyclischem Adenosin-3',5'-monophosphat (c-AMP) zustande kommt (Sutherland u. Robison, 1966; Sutherland et al., 1968; Robison et al., 1968, 1970; Entman et al., 1969; Epstein et al., 1971; Mayer, 1971). Für diese Hypothese spricht die Beobachtung, daß Adrenalin die Adenylcyclase, die die Umwandlung von ATP zu c-AMP katalysiert, in homogenisierten Zellen stimuliert (Robison et al., 1965). Weiterhin erhöht Adrenalin den Gehalt von c-AMP am intakten Herzen (Robison et al., 1965; Cheung u. Williamson, 1965; Hammermeister et al., 1965; Drummond et al., 1966).

Außerdem wurde nachgewiesen, daß der Phosphodiesterase-Hemmstoff Theophyllin (Butcher u. Sutherland, 1962) die positiv inotrope Wirkung von Adrenalin verstärkt (Rall u. West, 1963). Die Phosphodiesterase (PDE) katalysiert die Umwandlung von c-AMP zu 5'-AMP; eine Hemmung der PDE könnte also zu einem "Anstau" von c-AMP in der Zelle führen.

Als weiteres Kriterium zugunsten der obengenannten Hypothese wurde von Sutherland und seiner Arbeitsgruppe gefordert (Zitate s.o.), daß mit c-AMP die positiv inotropen Effekte von Adrenalin nachgeahmt werden können. Bisher war es jedoch nicht möglich, mit c-AMP eine kontraktionskraftsteigernde Wirkung nachzuweisen.

Dies wurde damit erklärt, daß c-AMP nur schlecht in die Herzmuskelzelle eindringt bzw. im Zellinnern sehr schnell zu 5'-AMP abgebaut wird (Sutherland et al., 1968).

Deshalb wurden Derivate des c-AMP synthetisiert, die besser lipoidlöslich als c-AMP sind (Posternak et al., 1962) und durch die PDE nur in geringem Maß abgebaut werden (Posternak et al., 1962; Falbriard et al., 1967).

Aus der Reihe der c-AMP-verwandten Substanzen ist besonders das Dybutyrylderivat des c-AMP eingehend untersucht worden (Epstein et al., 1971).

Bei dem Versuch, mit DB-c-AMP positiv inotrope Wirkungen zu erzielen, kamen verschiedene Untersucher zu unterschiedlichen Ergebnissen.

Eine positiv inotrope Wirkung wurde am Katzenpapillarmuskel (Skelton et al., 1970) und am Rattenvorhof gefunden (Bertelli et al., 1972; Meinertz et al., 1972) sowie von Kukovetz und Pösch (1970) an isoliert perfundierten Herzen von Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen. Die Wirkung an Kaninchen- und Meerschweinchenherzen war jedoch nicht konzentrationsabhängig und nicht an allen Präparaten nachweisbar.

Andere Untersucher fanden dagegen mit DB-c-AMP keine oder negativ inotrope Wirkungen.

So fanden Robison et al. (1965) am isoliert perfundierten Rattenherzen keine Steigerung der Kontraktionskraft unter dem Einfluß von DB-c-AMP. Auch Bertelli et al. (1972) konnten an Vorhofspräparaten von Katzen und Kaninchen mit DB-c-AMP in Konzentrationen bis zu 10^{-3} M keine positiv inotropen Effekte beobachten.

Negativ inotrope Effekte wurden am Meerschweinchenvorhof mit 10^{-3} M DB-c-AMP beschrieben (Bertelli et al., 1972; Meinertz et al., 1972).

Insgesamt gesehen lassen die heute vorhandenen Befunde also manche Frage zur positiv inotropen Wirkung von DB-c-AMP offen.

Es erschien deshalb wichtig zu prüfen, ob die positiv inotrope Wirkung von DB-c-AMP nur unter ganz bestimmten Bedingungen bei bestimmten Spezies gefunden wird, oder ob DB-c-AMP unter geeigneten Versuchsbedingungen an allen Warmblüterspezies positiv inotrop wirksam ist.

B. METHODE

Versuchspräparate

Die Versuche wurden an isolierter Ventrikel- und Vorhofsmuskulatur folgender Warmblüterspezies durchgeführt:

Mensch, Katze, Kaninchen, Kalb, Schaf, Ratte und Meerschweinchen.

Nähere Angaben über das Körpergewicht und das Geschlecht der einzelnen Spezies sowie über Gewicht, Dicke, Querschnittsfläche und Länge der verwendeten Präparate sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Die Versuchspräparate wurden folgendermaßen gewonnen:

a) Ratte und Meerschweinchen (linker Vorhof und Streifen vom rechten Ventrikel).

Verwendet wurden Tiere beiderlei Geschlechts mit folgenden Gewichten: Sprague-Dawley-Ratten 70 - 260 g, leichte Meerschweinchen 70 - 120 g, schwere Meerschweinchen 210 - 350 g.

Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet und aus den Carotiden entblutet. Nach Eröffnung des Thorax wurde das Herz möglichst schnell entnommen.

Die weitere Präparation erfolgte bei Zimmertemperatur in carbogenbegaster Tyrodelösung. Als Versuchspräparat wurde zunächst der linke Vorhof abgeschnitten; danach wurde die rechte Ventrikelwand vorsichtig abgetrennt und in dünne Streifen geschnitten.

Die isolierten Präparate wurden so zwischen zwei Platinelektroden befestigt, daß ein Ende des Präparates über einen 12 cm langen Stahldraht (0,5 mm Durchmesser) mit dem Spannungsaufnehmer verbunden war, während das andere Ende mittels einer kurzen Seidenfadenkonnektur an einem Muskelhalter fixiert war.

b) Katze, Papillarmuskeln und Streifen vom linken Vorhof. Die Tiere beiderlei Geschlechts wogen zwischen 550 und 2500 g. Zur Betäubung wurde Pentobarbital-Natrium (Nembutal-Na^R) in einer Dosis von 50 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal

Spezies	Körpergewicht g	Geschl.	Präparat	Anzahl der Präpar.	Feuchtgew. mg	Trockengew. mg	Dicke mm	Querschnitts- fläche mm ²	Länge mm
Mensch		m w	Papillarmuskel = streifen li Ve	28	8,64 ± 0,65	2,28 ± 0,17	0,97 ± 0,05	1,24 ± 0,10	5,80 ± 0,29
Katze	1552 ± 88	m w	Papillarmuskel re Ve	32	4,83 ± 0,64	1,28 ± 0,18	0,89 ± 0,03	0,70 ± 0,06	6,30 ± 0,33
Katze	(15)		Streifen li VH	22	11,9 ± 1,17	3,53 ± 0,39	0,61 ± 0,06	0,76 ± 0,08	11,4 ± 0,72
Kaninchen	1566 ± 43	m w	Papillarmuskel re Ve	16	4,50 ± 0,30	1,26 ± 0,16	0,68 ± 0,04	0,41 ± 0,04	3,99 ± 0,14
Kaninchen	(9)		li VH, halbiert	15	53,2 ± 7,80	10,8 ± 1,43	—	—	—
Kalb		m w	Trabekel re Ve	25	8,96 ± 1,38	2,14 ± 0,24	0,78 ± 0,05	0,80 ± 0,13	9,17 ± 0,56
Kalb			Streifen li VH	7	11,7 ± 1,92	2,62 ± 0,55	1,02 ± 0,15	1,18 ± 0,59	7,97 ± 0,71
Schaf		m w	Trabekel re Ve	20	4,29 ± 0,75	0,87 ± 0,10	0,65 ± 0,07	0,50 ± 0,09	7,51 ± 0,43
Schaf			Streifen li VH	17	12,5 ± 1,74	3,22 ± 0,37	0,69 ± 0,07	0,76 ± 0,11	10,9 ± 0,80
Ratte	192 ± 12	m w	Streifen re Ve	26	7,17 ± 0,47	2,01 ± 0,22	0,81 ± 0,03	0,93 ± 0,05	9,73 ± 0,05
Ratte	(28)		li VH	28	8,56 ± 0,60	2,14 ± 0,16	—	—	—
Meerschw.	248 ± 6	m w	Streifen re Ve	16	19,5 ± 1,61	5,50 ± 0,50	0,84 ± 0,02	0,89 ± 0,04	9,68 ± 0,47
Meerschw.	(23)		li VH	23	29,6 ± 1,59	6,71 ± 0,32	—	—	—
Meerschw.	83 ± 5 (21)	m w	li VH	21	13,7 ± 1,75	2,97 ± 0,38	—	—	—

Tabelle 1

Körpergewicht und Geschlecht der Spezies sowie Feuchtgewicht, Trockengewicht, Dicke, Querschnittsfläche und Länge der Präparate. Die angegebenen Meßwerte sind $\bar{x} \pm s\bar{x}$.

injiziert.

Nach Eintritt der vollständigen Anästhesie (etwa 15 min nach der Injektion), die am Erlöschen des Lidreflexes erkennbar war, wurden die Tiere aus den Carotiden entblutet, Anschließend wurde der Thorax eröffnet und das Herz möglichst schnell entnommen.

Der Vorhof wurde wie unter a) beschrieben präpariert. Danach wurde der rechte Ventrikel vorsichtig eröffnet. Es fanden sich meist zwei, manchmal jedoch auch ein oder drei passende Papillarmuskeln, die schonend, mit erhaltenen Sehnenfäden, vom Septum interventrikuläre bzw. von der Ventrikelwand abgeschnitten wurden. Zur Anwendung kamen nur dünne Papillarmuskeln mit einem Durchmesser von maximal 1 mm.

Aus dem linken Vorhof wurden 2 - 3 dünne Streifen geschnitten. Die Präparate wurden wie unter a) beschrieben zwischen den Platinelektroden befestigt.

c) Kaninchen, Papillarmuskeln und halbierte linke Vorhöfe.

Verwendet wurden Tiere beiderlei Geschlechts. Das Gewicht betrug 1400 - 1750 g.

Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet und aus den Carotiden entblutet. Der Thorax wurde eröffnet und das Herz möglichst schnell entnommen. Die Präparation und das Aufhängen von Vorhof und Papillarmuskel erfolgte in gleicher Weise wie unter a) beschrieben.

d) Kalb und Schaf, Trabekel aus rechtem Ventrikel und linkem Vorhof.

Die Herzen der Tiere beiderlei Geschlechts wurden im Schlachthof entnommen und in Dewar-Gefäßen mit unbegaster, gekühlter Tyrodelösung (4°C) zum Versuchslabor transportiert. Der Transport dauerte nie länger als 15 Minuten.

Die Vorhofs- und Ventrikelpräparate wurden bei Zimmertempe-

ratur in begaster Tyrodelösung gewonnen. Dabei wurde zunächst der linke Vorhof abgeschnitten und in seiner Innenfläche passende Trabekel abgetrennt. Anschließend wurde der rechte Ventrikel vollständig eröffnet. Geeignete Trabekel wurden vorsichtig von der Ventrikelwand abgetrennt. Verwendung fanden wie beim Vorhof nur solche Trabekel, die lediglich mit ihren Enden mit der Ventrikelwand verwachsen waren und einen runden Querschnitt hatten. Die Befestigung der Präparate zwischen den Reizelektroden erfolgte wie unter a) beschrieben.

e) Mensch, Papillarmuskeln.

Die Versuche wurden an dünnen Streifen linksventrikulärer menschlicher Papillarmuskeln^x durchgeführt, die während eines operativen Mittelklappenersatzes gewonnen wurden.

Zur Verwendung kamen Präparate von 7 Patienten beiderlei Geschlechts zwischen 37 und 52 Jahren. Der Transport der Papillarmuskeln von Heidelberg nach Mainz erfolgte in Dewar-Gefäßen mit Tyrodelösung von 4°C und dauerte maximal 75 Minuten.

Die weitere Präparation zu dünnen Streifen erfolgte in begaster Tyrodelösung bei Zimmertemperatur.

Die Befestigung der Präparate in der Versuchsassatur erfolgte in der zuvor beschriebenen Weise.

Meßapparatur und Reizgrößen

Jedes Präparat wurde in einem Organbad mit 5 ml carbogenbegaster Tyrodelösung suspendiert. Der Inhalt des Bades konnte innerhalb von 2 - 3 Sekunden ausgewechselt werden.

x) Für die Überlassung der Präparate bin ich Herrn Prof. Dr. W. Schmitz, Vorstand der Abteilung für Spezielle Thoraxchirurgie, Chirurgische Universitätsklinik Heidelberg, sehr dankbar.

Die elektrische Reizung erfolgte mit Rechteckimpulsen von 2 msec Dauer und doppelter Schwellenstromstärke. Die Reizfrequenz betrug im allgemeinen 0,5 Hz.

Bei Vorhofspräparaten von Kaninchen wurde eine Reizfrequenz von 2 Hz gewählt, da diese Präparate bei 0,5 Hz nur eine geringe Kontraktionskraft entwickelten, die das Auswerten von Einzelkontraktionen (s.u.) unmöglich machte.

Die Vorhofspräparate der leichten Meerschweinchen wurden mit 2 Hz gereizt, weil bei diesen Präparaten bei 0,5 Hz regelmäßig Extrasystolen auftraten.

Außerdem wurde am Papillarmuskel der Katze zusätzlich eine Versuchsreihe mit 0,2 Hz durchgeführt.

Die Registrierung der Kontraktion erfolgte unter isometrischen Bedingungen auf dem Gipfel des Längenspannungsdiagramms jedes Präparates über Dehnungsmeßstreifen (Grass FT 03) auf Direktschreibern (Hellige 19) bzw. auf einem Doppelstrahloszillographen (Tektronix 502).

Die Vorspannung lag bei Ventrikelpreparaten etwa bei 0,5 g, bei Vorhofspräparaten etwa bei 1 g.

Lösungen und Substanzen

Es wurde carbogenbegaste (95% O₂ + 5% CO₂) Tyrodelösung folgender Zusammensetzung verwendet:

NaCl 136,9 mM, KCl 5,4 mM, MgCl₂ 1,05 mM, NaH₂PO₄ 0,42 mM, NaHCO₃ 11,9 mM, CaCl₂ 1,8 mM, Glucose 5,5 mM.

Die Badtemperatur betrug 35°C.

Substanzen:

- a) Cyclisches N⁶-2'-O-Dibutyryl-adenosin-3',5'-monophosphat (DB-c-AMP) als Mononatriumsalz (Boehringer Mannheim)
- b) Propanolol als Hydrochlorid (Rhein-Pharma)

Die Substanzen wurden unmittelbar vor jedem Versuch in Tyrodelösung gelöst und der Badlösung direkt zupipettiert. Der pH-Wert der Badlösungen wurde durch die Zugabe der Substanzen nicht verändert. Er lag im Bereich von 7,3 - 7,4.

Versuchsablauf

Vor Substanzzugabe wurden alle Präparate 60 Minuten in Tyrodelösung schlagend äquibriert. Nach dieser Periode wurde die zu untersuchende Substanz zugegeben und ihr Einfluß auf die Kontraktionskraft der Präparate 60 Minuten lang registriert.

Anschließend folgte eine einstündige Spülperiode in substanzfreier Tyrodelösung. Insgesamt wurde 5 mal gespült, und zwar 3 mal unmittelbar nach Beendigung des Substanzeffektes, dann je 1 mal nach 15 und nach 30 Minuten.

Für jede Substanzprüfung wurden bei jeder Konzentration neue Präparate benutzt. Die Registrierung der Einzelkontraktion erfolgte vor Substanzzugabe und im Maximum der Substanzwirkung. Die Laufgeschwindigkeit des Registrierpapierees betrug dabei 250 mm/sec.

Nach Beendigung des Versuches wurden Länge und Dicke von jedem Präparat gemessen. Anschließend wurden die Präparate unter standardisierten Bedingungen (1,5 min zwischen Blauband Filterpapier, Belastung 280 g) abgepreßt und das Feuchtgewicht bestimmt. Danach wurden die Präparate bei 100°C 12 Stunden lang getrocknet und erneut gewogen (Trockengewicht).

Auswertung

Die Kontraktionskraft der Präparate wurde unmittelbar vor Zugabe der Substanzen (Kontrolle) und im Maximum der Substanzwirkung gemessen.

Die durch die untersuchten Substanzen bewirkten Effekte wurden in % der Kontrolle (Kontrolle = 100%) angegeben. Die Kontrollwerte sind in Tabelle 2 für sämtliche Meßgrößen zusammengestellt.

Außer der Kraft wurden ausgewertet:

- 1.) Die Zeit zwischen Substanzzugabe und Beginn bzw. Maximum der Substanzwirkung.
- 2.) Die Zeit bis zum Wiedererreichen der Ausgangswerte während der Spülperiode.

Bei den Einzelkontraktionen wurden außer der Kraft folgende Parameter ausgewertet:

- a.) Anstiegszeit (t_1 in msec) = Zeit zwischen Beginn und Maximum
- b.) Erschlaffungszeit (t_2 in msec) = Zeit zwischen Maximum und Ende
- c.) mittlere Anstiegssteilheit (S_1 in g/sec)
- d.) mittlere Erschlaffungssteilheit (S_2 in g/sec)
- e.) Gesamtdauer der Kontraktion in msec.

t_1 und t_2 wurden bei 10% des Kontraktionsmaximums gemessen. Entsprechend wurde zur Berechnung von S_1 und S_2 90% der Kontraktionskraft zugrunde gelegt. Einzelkontraktionen wurden nur bei solchen Präparaten ausgewertet, bei denen die Kontraktionskraft mindestens 200 mg betrug.

Sämtliche Angaben erfolgen als Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler der Mittelwerte. N ist die Anzahl der Präparate.

C. ERGEBNISSE

1. Wirkung von DB-c-AMP an Vorhofspräparaten verschiedener Warmblüterspezies.

Zunächst wurde der Einfluß von DB-c-AMP (10^{-4} bis $3 \cdot 10^{-3} \text{M}$) auf die Kontraktionskraft der Vorhofspräparate untersucht. Das Ergebnis dieser Versuche ist in Abb.1 (rechte Seite) dargestellt. Man sieht, daß DB-c-AMP an den Vorhöfen der meisten Spezies konzentrationsabhängig positiv inotrop wirkte. Dieser Effekt setzte je nach Spezies bei einer DB-c-AMP-Konzentration von 10^{-4}M (z.B. Ratte) bis 10^{-3}M (z.B. Kaninchen) ein und war im allgemeinen bei einer Konzentration von $3 \cdot 10^{-3} \text{M}$ maximal. Wie aus Abb.1 weiter hervorgeht, war die positiv inotrope Wirkung von DB-c-AMP am Vorhof von Katze, Schaf, Ratte und Kalb stärker ausgeprägt, als am Vorhof des Kaninchens. Es zeigte sich jedoch auch hier ein positiv inotroper Effekt; allerdings erst, wie bereits erwähnt, bei Konzentrationen ab $3 \cdot 10^{-3} \text{M}$.

An Vorhöfen von "normalen" Meerschweinchen (Tiergewicht 220 bis 350 g) dagegen wirkte DB-c-AMP überwiegend negativ inotrop. Lediglich bei 3 von 23 Präparaten wurden positiv inotrope Wirkungen beobachtet. Diese traten bei DB-c-AMP-Konzentrationen von 10^{-3}M (1 von 6) und $3 \cdot 10^{-3} \text{M}$ (2 von 6) auf. Die überwiegend negativ inotrope Wirkung von DB-c-AMP beruht möglicherweise darauf, daß die Substanz bei diesen Präparaten besonders schlecht in die Zelle eindringt. Es wurde deshalb versucht, an Vorhöfen besonders leichter Meerschweinchen (Tiergewicht 70 bis 120 g) mit DB-c-AMP positiv inotrope Wirkungen zu erzielen. In Konzentrationen bis 10^{-3}M wirkte DB-c-AMP aber auch bei diesen Präparaten überwiegend negativ inotrop. Selbst bei $3 \cdot 10^{-3} \text{M}$ DB-c-AMP war nur in 3 von 5 Fällen eine positiv inotrope Wirkung zu beobachten.

Ein Beispiel für die unterschiedliche Wirkung von DB-c-AMP auf die Kontraktionskraft von Vorhöfen normaler Meerschweinchen gibt Abb.2. Im oberen Teil der Abbildung ist ein Versuch dargestellt, bei dem DB-c-AMP deutlich negativ inotrop wirkte. Der untere Teil der Abbildung zeigt einen der weni-

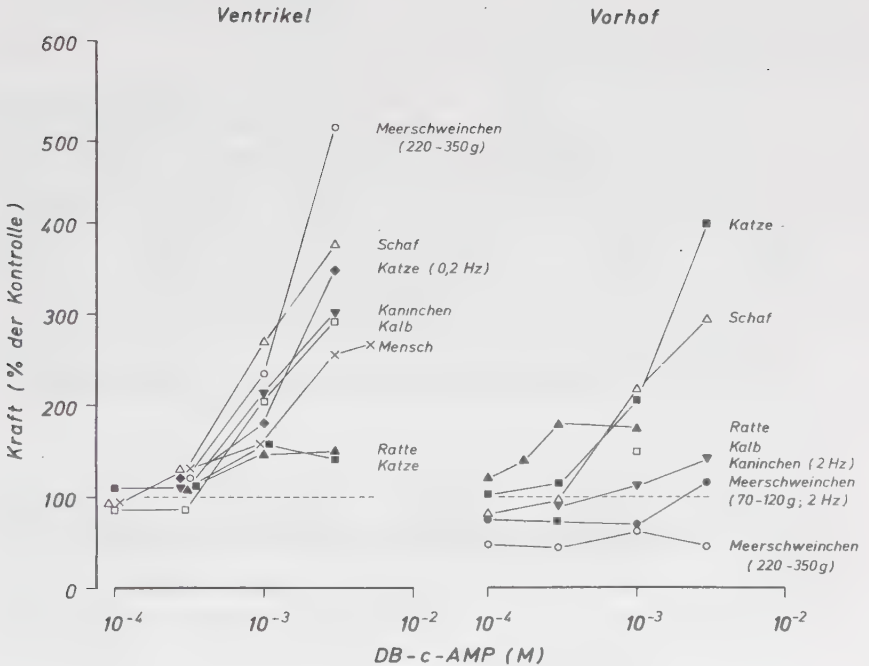


Abb. 1

Wirkung von DB-c-AMP (10^{-4} - $5 \cdot 10^{-3}$ M; Abszisse) auf die Kontraktionskraft von isolierten Ventrikel- und Vorhofspräparaten verschiedener Spezies.

Ordinate: Kontraktionskraft unter dem Einfluß von DB-c-AMP in % der Ausgangslage (Kontrolle = 100%). Kontrollwerte siehe Tabelle 2.

Auswertung im Maximum des inotropen Effektes.

Die Symbole stellen die Mittelwerte aus jeweils 3 - 14 Versuchen dar.

Spezies	Präparat	Frequ. Hz	Kraft			Anstiegs- zeit msec	mittlere An- stiegssteilheit g/sec	Erschlaffungs- zeit msec	mittlere Er- schlaffungs- steilheit g/sec	Gesamtdauer d.Kontraktion msec
			g/g FG	g/g TG	g/mm ²					
Mensch	li Ve	0,5	14,7 ± 2,00 (28)	61,8 ± 10,8 (28)	0,10 ± 0,01 (28)	223 ± 8,00 (17)	0,58 ± 0,11 (17)	385 ± 11,0 (17)	0,33 ± 0,06 (17)	602 ± 19,0 (17)
Katze	re Ve	0,5	196 ± 46,7 (22)	887 ± 156 (22)	1,13 ± 0,15 (22)	176 ± 3,00 (15)	4,04 ± 0,49 (15)	203 ± 9,00 (15)	3,50 ± 0,41 (15)	380 ± 8,00 (15)
Katze	re Ve	0,2	122 ± 21,3 (10)	402 ± 110 (10)	0,57 ± 0,09 (10)	176 ± 7,00 (10)	2,16 ± 0,52 (10)	217 ± 12,0 (10)	1,96 ± 0,57 (10)	394 ± 15,0 (10)
Katze	li VH	0,5	46,4 ± 6,90 (22)	182 ± 30,7 (22)	0,71 ± 0,09 (22)	48,0 ± 1,00 (13)	11,1 ± 1,26 (13)	81,0 ± 3,00 (13)	6,91 ± 0,86 (13)	129 ± 3,00 (13)
Kaninchen	re Ve	0,5	53,1 ± 12,4 (15)	191 ± 44,2 (15)	0,81 ± 0,25 (15)	143 ± 7,00 (11)	2,06 ± 0,39 (11)	193 ± 12,0 (11)	1,71 ± 0,42 (11)	338 ± 16,0 (11)
Kaninchen	li VH	2,0	13,8 ± 2,20 (15)	73,1 ± 13,6 (15)		63,0 ± 10,0 (8)	8,53 ± 1,27 (8)	78,0 ± 3,00 (8)	7,78 ± 2,52 (8)	125 ± 5,00 (8)
Kaninchen	li VH	0,5	2,50 ± 0,70 (9)	12,9 ± 4,20 (9)						
Kalb	re Ve	0,5	114 ± 18,2 (25)	425 ± 73,0 (25)	0,89 ± 0,13 (25)	168 ± 5,00 (16)	4,34 ± 1,18 (16)	343 ± 19,0 (16)	2,49 ± 0,79 (16)	512 ± 22,0 (16)
Kalb	li VH	0,5	214 ± 4,51 (7)	112 ± 28,6 (7)	0,18 ± 0,03 (7)	74,0 ± 3,00 (4)	3,26 ± 0,71 (4)	133 ± 7,00 (4)	1,79 ± 0,31 (4)	211 ± 8,00 (4)
Schaf	re Ve	0,5	93,4 ± 20,1 (20)	368 ± 70,0 (20)	0,96 ± 0,26 (20)	236 ± 18,0 (14)	1,82 ± 0,53 (14)	323 ± 28,0 (14)	1,20 ± 0,29 (14)	563 ± 38,0 (14)
Schaf	li VH	0,5	23,0 ± 5,09 (17)	72,5 ± 9,95 (17)	0,38 ± 0,08 (17)	70,0 ± 3,00 (12)	2,90 ± 0,43 (12)	136 ± 13,0 (12)	1,46 ± 0,24 (12)	209 ± 15,0 (12)
Ratte	re Ve	0,5	60,2 ± 7,60 (26)	299 ± 73,1 (26)	0,45 ± 0,03 (26)	73,0 ± 2,80 (6)	5,22 ± 1,25 (6)	112 ± 4,40 (6)	3,26 ± 0,66 (6)	185 ± 7,00 (6)
Ratte	li VH	0,5	81,7 ± 7,20 (28)	336 ± 29,3 (28)		32,5 ± 1,20 (10)	17,4 ± 1,90 (10)	50,0 ± 2,30 (10)	11,8 ± 1,37 (10)	83,3 ± 2,80 (10)
Meerschw (220 - 350 g)	re Ve	0,5	4,20 ± 0,36 (16)	15,6 ± 1,53 (16)	0,09 ± 0,01 (16)	14,9 ± 13,0 (12)	0,62 ± 0,07 (12)	258 ± 17,0 (12)	0,36 ± 0,05 (12)	408 ± 26,0 (12)
Meerschw (220 - 350 g)	li VH	0,5	23,0 ± 2,50 (23)	99,0 ± 9,30 (23)		47,0 ± 1,00 (10)	16,6 ± 2,56 (10)	98,0 ± 5,00 (10)	7,91 ± 1,08 (10)	146 ± 6,00 (10)
Meerschw (70 - 120 g)	li VH	2,0	58,6 ± 7,90 (21)	258 ± 34,4 (21)		43,0 ± 1,00 (12)	15,7 ± 1,77 (12)	77,0 ± 3,00 (12)	8,93 ± 1,09 (12)	122 ± 3,00 (12)

Tabelle 2

Mittelwerte (mit mittleren Fehlern) der vor Zugabe von DB-c-AMP gemessenen Kontrollwerte.

(Zahlen in Klammern = Anzahl der Präparate.)

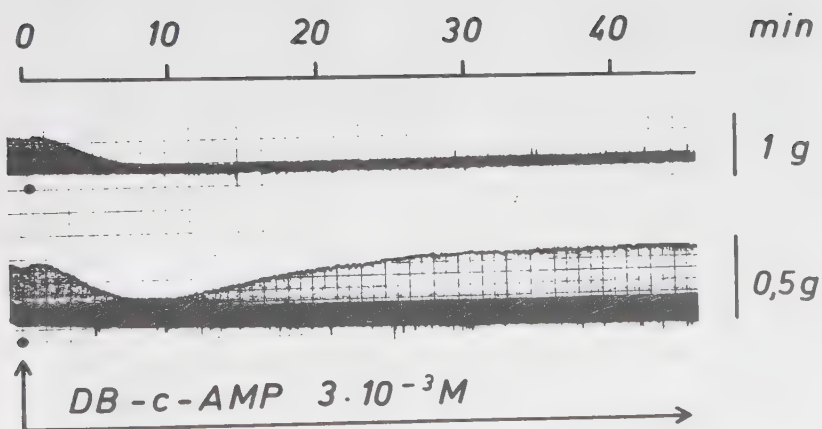


Abb. 2

Wirkung von DB-c-AMP ($3 \cdot 10^{-3} M$) auf die Kontraktionskraft bei 2 isolierten Meerschweinchenvorhöfen während 45 Min. Bei Zugabe von DB-c-AMP. Gewichte der Tiere: 250 g (oben und 250 g (unten).

gen Versuche, bei denen DB-c-AMP nur vorübergehend negativ inotrop wirkte. Im Anschluß an den negativ inotropen Effekt kam es zu einer kontinuierlichen Zunahme der Kontraktionskraft, die innerhalb von 30 Minuten die vor Substanzzugabe gemessene Ausgangslage übertraf. Es sei betont, daß beide Versuche gleichzeitig und unter identischen Bedingungen durchgeführt wurden.

Einen Überblick über die Zeiten bis zum Beginn und bis zum Maximum des inotropen Effektes in Abhängigkeit von der DB-c-AMP-Konzentration geben die Tabellen 3 und 4. Aus Tabelle 3 ist zu entnehmen, daß die DB-c-AMP-Wirkung bei allen Vorhofspräparaten erst mit einer Latenz von einigen Minuten einsetzte und daß meistens mit steigender DB-c-AMP-Konzentration die Zeit zwischen Substanzzugabe und Eintritt der inotropen DB-c-AMP-Wirkung abnahm. Tabelle 4 zeigt, daß mit Ausnahme des Kaninchenvorhofes das Maximum des inotropen Effektes bei steigender DB-c-AMP-Konzentration früher erreicht war.

Die Zeitdauer bis zum Wiedererreichen der Ausgangslage nach Spülen mit substanzfreier Tyrodelösung in Abhängigkeit von der untersuchten DB-c-AMP-Konzentration findet sich in Tabelle 5. Ebenso wie die Entwicklung der DB-c-AMP-Wirkung dauerte auch ihr Abklingen mehrere Minuten.

Spezies	Präparat	Frequ. Hz	Art d. Effektes	DB - c - AMP - Konzentration (M)					
				10^{-4}	$1,75 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	10^{-3}	$3 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$
Mensch	li Ve	0,5	+			$16,7 \pm 1,70$ (4)	$5,80 \pm 0,90$ (6)	$4,00 \pm 0,70$ (5)	$6,00 \pm 0,70$ (4)
Katze	re Ve	0,5	+			$8,60 \pm 0,80$ (7)	$3,60 \pm 0,40$ (6)	$1,60 \pm 0,30$ (3)	
Katze	re Ve	0,2	+			$14,6 \pm 2,60$ (3)	$11,2 \pm 2,20$ (4)	$3,60 \pm 0,30$ (3)	
Katze	li VH	0,5	+			$15,3 \pm 5,00$ (3)	$4,20 \pm 0,90$ (8)	$2,50 \pm 0,90$ (4)	
Kaninchen	re Ve	0,5	+			$3,00 \pm 1,00$ (3)	$4,80 \pm 0,70$ (6)	$6,80 \pm 1,30$ (5)	
Kaninchen	li VH	2,0	+				$6,20 \pm 0,70$ (4)	$4,00 \pm 0,80$ (6)	
Kalb	re Ve	0,5	+				$3,50 \pm 0,80$ (9)	$3,50 \pm 0,70$ (6)	
Kalb	li VH	0,5	+				$7,00 \pm 2,00$ (3)		
Schaf	re Ve	0,5	+			$11,0 \pm 1,00$ (2)	$6,10 \pm 2,80$ (7)	$3,80 \pm 0,60$ (4)	
Schaf	li VH	0,5	+				$11,6 \pm 7,60$ (5)	$7,50 \pm 2,70$ (6)	
Ratte	re Ve	0,5	+			$7,50 \pm 2,50$ (2)	$3,30 \pm 0,60$ (14)	$3,10 \pm 0,30$ (6)	
Ratte	li VH	0,5	+	$6,60 \pm 0,30$ (3)	$6,20 \pm 0,20$ (4)	$6,10 \pm 0,40$ (6)	$3,00 \pm 0,20$ (15)		
Meerschw. (220-350g)	re Ve	0,5	+			$28,0 \pm 2,30$ (6)	$15,0 \pm 2,10$ (7)	$4,50 \pm 0,60$ (4)	
Meerschw. (220-350g)	li VH	0,5	-	$4,80 \pm 0,60$ (6)		$3,30 \pm 0,40$ (6)	$1,00$ (5)	$1,60 \pm 0,30$ (6)	
Meerschw. (70-120g)	li VH	2,0	- +*	$5,00 \pm 1,50$ (3)		$3,80 \pm 0,60$ (6)	$2,30 \pm 0,20$ (6)	$1,60 \pm 0,60$ (3) *	

Tabelle 3

Zeit (Minuten) zwischen Zugabe von DB-c-AMP und Beginn der inotropen DB-c-AMP-Wirkung in Abhängigkeit von der DB-c-AMP-Konzentration.

Es wurden nur solche Versuche berücksichtigt, bei denen ein inotroper Effekt nachweisbar war.

Symbole: + positiv bzw. - negativ inotrope Wirkung.

(Zahlen in Klammern = Anzahl der Präparate.)

Spezies	Präparat	Frequ. Hz	Art d Effektes	DB-c-AMP-Konzentration (M)					
				10^{-4}	$1,75 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	10^{-3}	$3 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$
Mensch	li Ve	0,5	+			$54,0 \pm 6,00$ (4)	$30,1 \pm 3,40$ (6)	$26,0 \pm 1,30$ (5)	$20,2 \pm 2,40$ (4)
Katze	re Ve	0,5	+	$36,2 \pm 9,50$ (5)		$32,1 \pm 6,40$ (7)	$35,3 \pm 4,60$ (6)	$12,0$ (3)	
Katze	re Ve	0,2	+			$35,0 \pm 5,00$ (3)	$41,2 \pm 1,70$ (4)	$30,0$ (3)	
Katze	li VH	0,5	+			$48,0 \pm 3,50$ (3)	$49,0 \pm 5,90$ (8)	$26,2 \pm 3,50$ (4)	
Kaninchen	re Ve	0,5	+			$50,0 \pm 10,0$ (3)	$43,0 \pm 4,10$ (6)	$38,4 \pm 3,60$ (5)	
Kaninchen	li VH	2,0	+				$17,0 \pm 2,10$ (4)	$17,5 \pm 1,50$ (6)	
Kalb	re Ve	0,5	+				$27,0 \pm 1,90$ (9)	$32,0 \pm 5,00$ (6)	
Kalb	li VH	0,5	+				$33,6 \pm 4,70$ (3)		
Schaf	re Ve	0,5	+			$38,0 \pm 4,00$ (2)	$41,7 \pm 5,30$ (7)	$45,6 \pm 7,20$ (4)	
Schaf	li VH	0,5	+				$36,8 \pm 7,00$ (5)	$47,1 \pm 5,00$ (6)	
Ratte	re Ve	0,5	+			$32,5 \pm 1,50$ (2)	$17,0 \pm 2,00$ (14)	$15,5 \pm 2,20$ (6)	
Ratte	li VH	0,5	+	$44,0 \pm 8,00$ (3)	$25,7 \pm 2,30$ (4)	$27,3 \pm 1,40$ (6)	$11,1 \pm 0,50$ (15)		
Meerschw. (220-350g)	re Ve	0,5	+			$55,1 \pm 2,00$ (6)	$48,0 \pm 2,00$ (7)	$34,7 \pm 1,80$ (4)	
Meerschw. (220-350g)	li VH	0,5	-	$22,8 \pm 3,00$ (6)		$16,0 \pm 1,20$ (6)	$7,60 \pm 0,60$ (5)	$9,80 \pm 1,80$ (6)	
Meerschw (70-120g)	li VH	2,0	- + *	$19,6 \pm 2,90$ (3)		$24,5 \pm 7,50$ (6)	$12,3 \pm 2,10$ (6)	$20,0 \pm 1,10$ (3) *	

Tabelle 4

Zeit (Minuten) zwischen Zugabe von DB-c-AMP und Maximum der inotropen DB-c-AMP-Wirkung in Abhängigkeit von der DB-c-AMP-Konzentration.

Die Tabelle enthält nur solche Versuche, bei denen ein inotroper Effekt nachweisbar war.

Symbole: + positiv bzw. - negativ inotrope Wirkung.
(Zahlen in Klammern = Anzahl der Präparate)

Spezies	Präparat	Frequ. Hz	Art d. Effektes	DB-c-AMP-Konzentration (M)					
				10 ⁻⁴	1,75 · 10 ⁻⁴	3 · 10 ⁻⁴	10 ⁻³	3 · 10 ⁻³	5 · 10 ⁻³
Mensch	li Ve	0,5	+			17,3 ± 3,30 (3)	23,3 ± 2,40 (6)	54,8 ± 1,40 (5)	70,2 ± 2,20 (4)
Katze	re Ve	0,5	+			13,4 ± 1,40 (5)	12,8 ± 1,90 (5)	ES (3)	
Katze	re Ve	0,2	+			6,00 (3)	13,0 ± 1,10 (4)	23,0 ± 1,00 (3)	
Katze	li VH	0,5	+			13,6 ± 3,50 (3)	35,1 ± 6,30 (8)	6,00 / ES (2) (2)	
Kaninchen	re Ve	0,5	+				19,1 ± 6,50 (6)	18,8 ± 2,20 (5)	
Kaninchen	li VH	2,0	+				2,00 ± 0,50 (4)	4,80 ± 1,50 (6)	
Kalb	re Ve	0,5	+				57,0 ± 1,90 (4)	>60 (6)	
Kalb	li VH	0,5	+				50,0 ± 10,0 (3)		
Schaf	re Ve	0,5	+			27,0 ± 3,00 (2)	30,7 ± 7,90 (7)	39,2 ± 9,60 (5)	
Schaf	li VH	0,5	+				5,00 (4)	11,4 ± 2,60 (5)	
Ratte	re Ve	0,5	+			5,00 (2)	14,5 ± 0,50 (10)	10,0 / ES (1) (5)	
Ratte	li VH	0,5	+	8,30 ± 3,30 (3)	17,5 ± 1,80 (4)	24,1 ± 3,80 (6)	27,2 ± 2,90 (15)		
Meerschw. (220-350g)	re Ve	0,5	+			10,0 (3)	25,2 ± 9,00 (5)	430±30/ES (2) (2)	
Meerschw. (220-350g)	li VH	0,5	-	23,0 / >60 (1) (5)		30,0 / >60 (1) (5)	430±70/>60 (2) (3)	>60 (6)	
Meerschw. (70-120g)	li VH	2,0	- + *	3,00 / >60 (1) (2)		560±26 / >60 (3) (3)	15,0 / >60 (1) (5)	3,00 *	

Tabelle 5

Zeit (Minuten) bis zum Wiedererreichen der Ausgangslage nach Spülen mit substanzfreier Tyrodelösung in Abhängigkeit von der DB-c-AMP-Konzentration.

Es wurden nur solche Versuche berücksichtigt, bei denen ein inotroper Effekt nachweisbar war.

Symbole: + positiv bzw. - negativ inotrope Wirkung.

Zahlen in Klammern = Anzahl der Präparate.

ES = Präparate, bei denen während der DB-c-AMP-Einwirkung Extrasystolen auftraten und die deshalb nicht gespült wurden.

Bei Vorhöfen der leichten Meerschweinchen wirkte DB-c-AMP nur bei 3 · 10⁻³M positiv inotrop (markiert durch *).

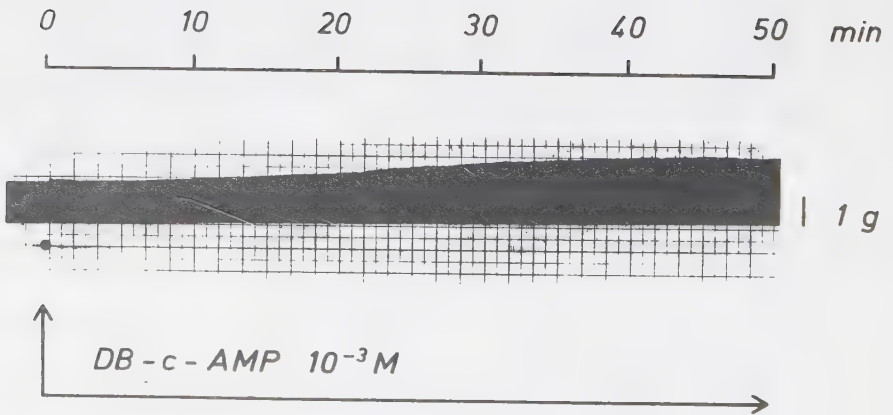


Abb.3

Wirkung von DB-c-AMP auf die Kontraktionskraft eines isolierten Katzenpapillarmuskels während 50 Minuten. Bei Zugabe von DB-c-AMP ($10^{-3} M$).

2. Wirkung von DB-c-AMP an Ventrikelpräparaten verschiedener Warmblüterspezies.

DB-c-AMP wurde an verschiedenen Ventrikelpräparaten in einer Konzentration von 10^{-4} bis $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ untersucht. Das Ergebnis dieser Versuche ist in Abb.1 (linke Seite) dargestellt. DB-c-AMP wirkte an allen Ventrikelpräparaten konzentrationsabhängig positiv inotrop. Dieser Effekt war an den Ventrikelpräparaten von Meerschweinchen, Schaf, Katze (0,2 Hz), Kaninchen, Kalb und Mensch stärker ausgeprägt als an den Ventrikelpräparaten von Ratte und Katze (0,5 Hz). Bei den beiden letztgenannten Präparaten führte DB-c-AMP in einer Konzentration von $3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ kurze Zeit nach der Applikation zu Extrasystolen. An dem mit 0,2 Hz gereizten Ventrikelpräparat der Katze dagegen traten auch unter dem Einfluß von $3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ DB-c-AMP keine Extrasystolen auf.

Ein typischer DB-c-AMP-Effekt ist in Abb.8 am Beispiel eines Katzenpapillarmuskels gezeigt. Die positiv inotrope DB-c-AMP-Wirkung setzte nach einer Latenzzeit von etwa 8 Minuten ein, entwickelte sich allmählich und erreichte innerhalb von 40 Minuten ihr Maximum. Die Zeit zwischen Substanzzugabe und Beginn der inotropen DB-c-AMP-Wirkung bzw. zwischen Substanzzugabe und dem Maximum der DB-c-AMP-Wirkung ist für sämtliche Versuche wieder in Tabelle 3 und 4 zusammengestellt. Man sieht, daß sowohl der Beginn (Tabelle 3) als auch das Maximum (Tabelle 4) der inotropen Wirkung von DB-c-AMP mit steigender Substanzkonzentration frühzeitiger eintraten. Auch bei den untersuchten Ventrikelpräparaten wurde die Ausgangslage während der Spülperiode erst allmählich wieder erreicht (Tabelle 5).

Eine zusätzliche Versuchsreihe wurde an menschlichen Papillarmuskelpräparaten durchgeführt. Hierbei sollte der Einfluß des β -Blockers Propranolol auf die positiv inotrope Wirkung von DB-c-AMP geprüft werden. Dazu wurden 6 Präparate für 10 Minuten vor sowie während der DB-c-AMP Einwirkung mit

Propranolol ($10^{-6}M$) behandelt.

Unter dem Einfluß von Propranolol war der DB-c-AMP-Effekt qualitativ und quantitativ unverändert nachweisbar.

Bei den Ventrikelpräparaten kam es unter dem Einfluß hoher DB-c-AMP-Konzentrationen (ab $10^{-3}M$) bei einigen Spezies zum Auftreten von Extrasystolen. Häufigkeit und Beginn dieser Extrasystolen in Abhängigkeit von der DB-c-AMP-Konzentration sind in Tabelle 6 zusammengefaßt (s.S. 26).

Vergleicht man die positiv inotrope Wirkung von DB-c-AMP an Ventrikelpräparaten mit den an Vorhofspräparaten erhaltenen Ergebnissen, so fällt auf, daß die kontraktionskraftsteigernde Wirkung an Ventrikelpräparaten stärker ausgeprägt war als an Vorhofspräparaten.

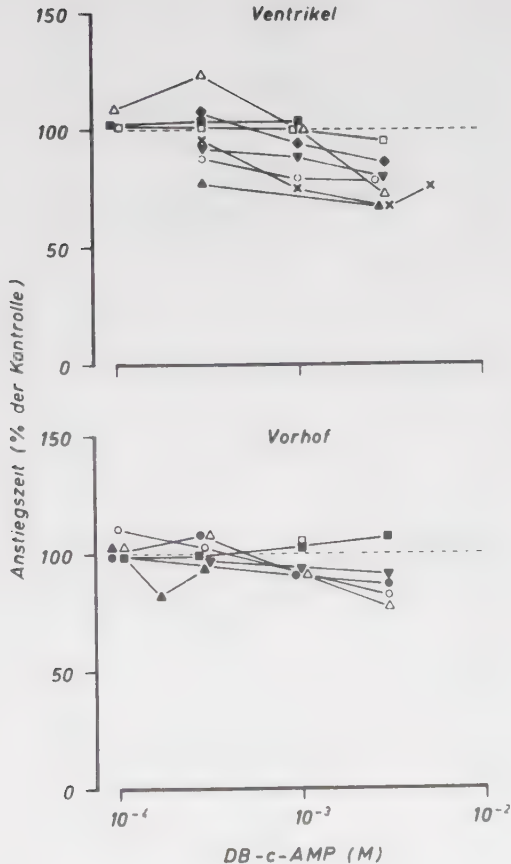


Abb. 4

Wirkung von DB-c-AMP (10^{-4} - $5 \cdot 10^{-3}$ M; Abszisse) auf die Anstiegszeit der Kontraktion bei isolierten Ventrikel- und Vorhofspräparaten verschiedener Spezies. Ordinate: Anstiegszeit unter dem Einfluß von DB-c-AMP in % der Ausgangslage (Kontrolle = 100%). Auswertung im Maximum des inotropen Effektes. Gleiche Versuche wie in Abb. 1. Kontrollwerte siehe Tabelle 2.

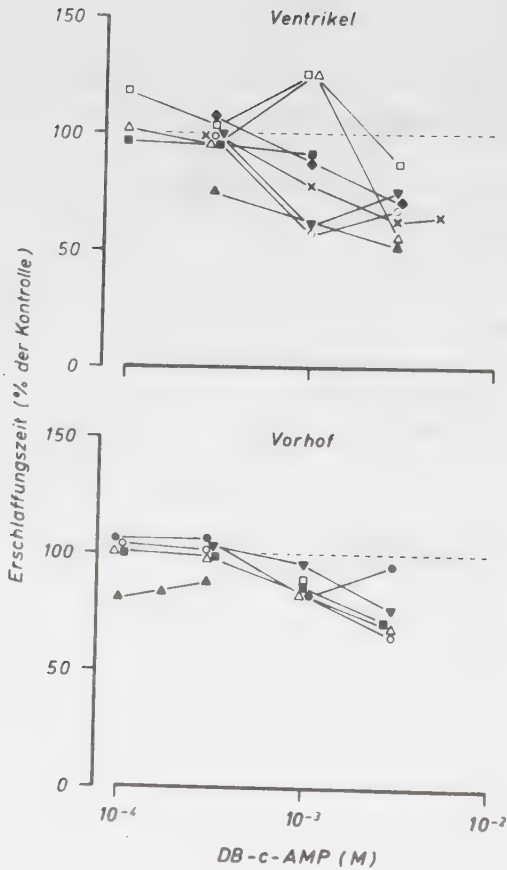


Abb. 5

Wirkung von DB-c-AMP (10^{-4} - $5 \cdot 10^{-3}$ M; Abszisse) auf die Erschlaffungszeit bei isolierten Ventrikel- und Vorhofspräparaten verschiedener Spezies.

Ordinate: Erschlaffungszeit unter dem Einfluß von DB-c-AMP in % der Ausgangslage (Kontrolle = 100%).

Auswertung im Maximum des inotropen Effektes.

Gleiche Versuche wie in Abb. 1.

Kontrollwerte siehe Tabelle 2.

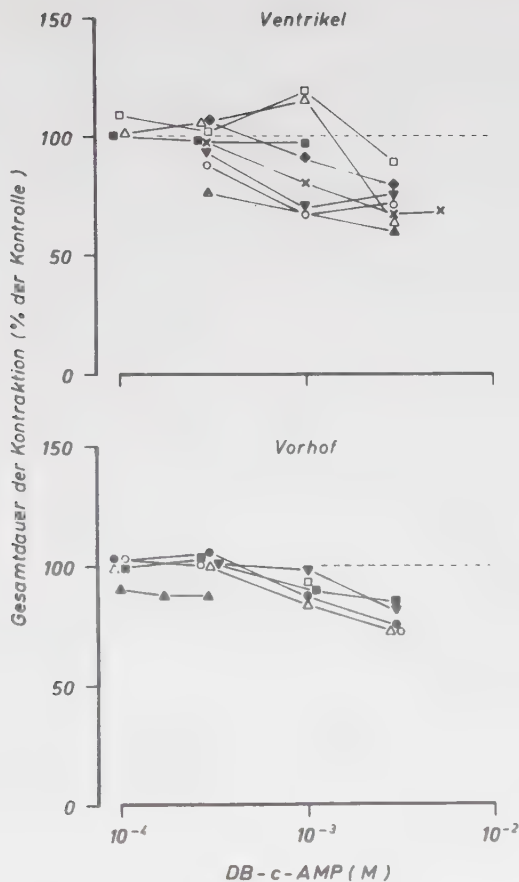


Abb. 6

Wirkung von DB-c-AMP (10^{-4} - $5 \cdot 10^{-3}$ M; Abszisse) auf die Gesamtdauer der Kontraktion bei isolierten Ventrikel- und Vorhofspräparaten verschiedener Spezies.

Ordinate: Gesamtdauer der Kontraktion unter dem Einfluß von DB-c-AMP in % der Ausgangslage (Kontrolle = 100%).

Auswertung im Maximum des inotropen Effektes.

Gleiche Versuche wie in Abb. 1.

Kontrollwerte siehe Tabelle 2.

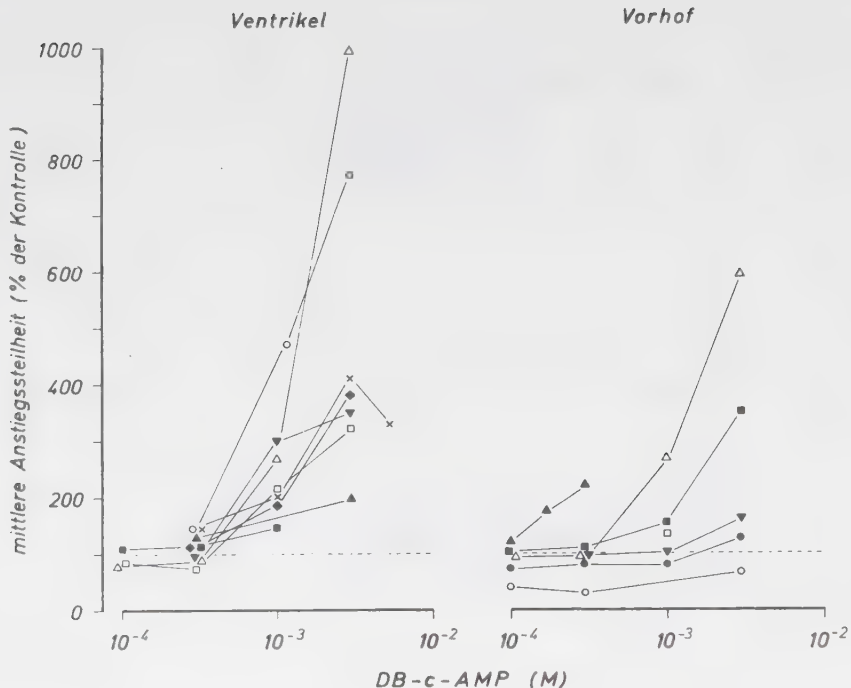


Abb. 7

Wirkung von DB-c-AMP (10^{-4} - $5 \cdot 10^{-3}$ M; Abszisse) auf die mittlere Anstiegssteilheit (Anstiegsgeschwindigkeit) der Kontraktion bei isolierten Ventrikel- und Vorhofspräparaten verschiedener Spezies.

Ordinate: Mittlere Anstiegssteilheit der Kontraktion unter dem Einfluß von DB-c-AMP in % der Ausgangslage (Kontrolle = 100%).

Auswertung im Maximum des inotropen Effektes.

Gleiche Versuche wie in Abb. 1.

Kontrollwerte siehe Tabelle 2.

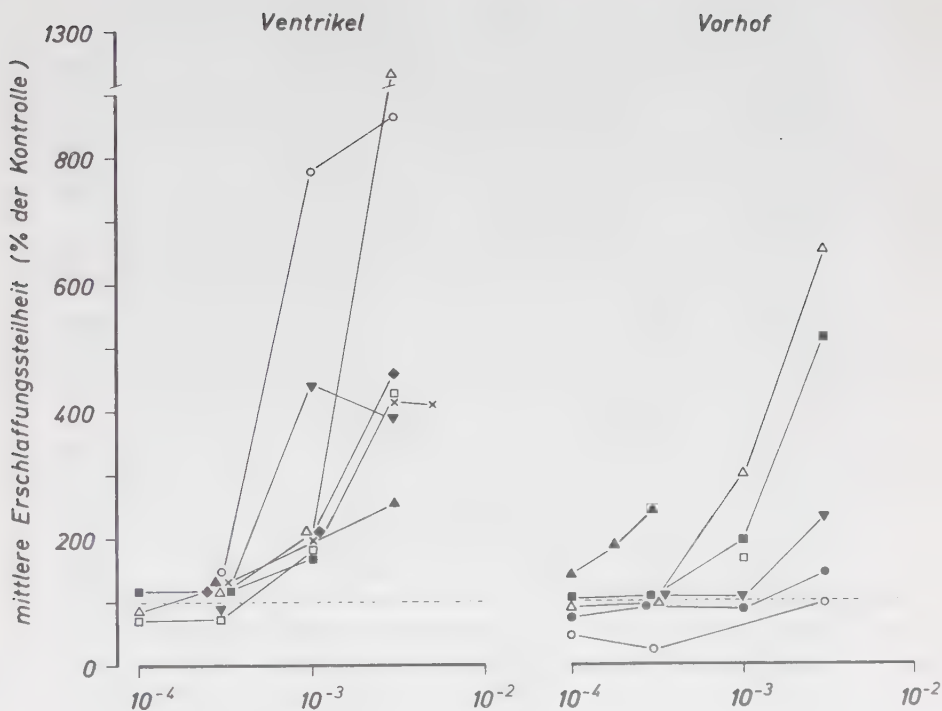


Abb. 8

Wirkung von DB-c-AMP (10^{-4} - $5 \cdot 10^{-3}$ M; Abszisse) auf die mittlere Erschlaffungssteilheit (Erschlaffungsgeschwindigkeit) der Kontraktion bei isolierten Ventrikel- und Vorhofspräparaten verschiedener Spezies.

Ordinate: Mittlere Erschlaffungssteilheit der Kontraktion unter dem Einfluß von DB-c-AMP in % der Ausgangslage (Kontrolle = 100%.

Auswertung im Maximum des inotropen Effektes.

Gleiche Versuche wie in Abb. 1.

Kontrollwerte siehe Tabelle 2.

Spezies	Präparat	Frequ.	Art d.	DB-c-AMP-Konzentration (M)				
		Hz	Effektes	10^{-3}	Beginn min	$3 \cdot 10^{-3}$	Beginn min	$5 \cdot 10^{-3}$
Mensch	li Ve	0,5	+	0/6		0/5		0/4
Katze	re Ve	0,5	+	0/6		3/3	$20,0 \pm 4,93$ (3)	
Katze	re Ve	0,2	+	0/4		0/3		
Katze	li VH	0,5	+	0/8		2/4	$30,0 \pm 7,00$ (2)	
Kaninchen	re Ve	0,5	+	0/6		1/6	$13,0$ (1)	
Kaninchen	li VH	2,0	+	0/5		0/6		
Kalb	re Ve	0,5	+	0/9		0/6		
Kalb	li VH	0,5	+	0/7				
Schaf	re Ve	0,5	+	0/7		0/5		
Schaf	li VH	0,5	+	0/5		0/6		
Ratte	re Ve	0,5	+	7/14	$44,8 \pm 4,78$ (7)	5/6	$28,2 \pm 10,4$ (5)	
Ratte	li VH	0,5	+	0/15				
Meerschw. (220-350g)	re Ve	0,5	+	0/7		2/4	$29,0 \pm 10,6$ (2)	
Meerschw. (220-350g)	li VH	0,5	-	0/5		0/6		
Meerschw. (70 - 120 g)	li VH	2,0	- + *	0/5		0/6		

Tabelle 6

Häufigkeit und Beginn (Minuten nach Zugabe) von Extrasystolen während der DB-c-AMP-Einwirkung in Abhängigkeit von der DB-c-AMP-Konzentration.

Bei Konzentrationen unter $10^{-3}M$ traten keine Extrasystolen auf.

Symbole: + positiv bzw. - negativ inotrope DB-c-AMP-Wirkung.

Bei Vorhöfen leichter Meerschweinchen wirkte DB-c-AMP bei $10^{-3}M$ negativ, bei $3 \cdot 10^{-3}M$ positiv inotrop.

3. Wirkung von DB-c-AMP auf verschiedene muskelmechanische Parameter.

Zur weiteren Charakterisierung der DB-c-AMP-Wirkung wurde der Einfluß von DB-c-AMP auf verschiedene muskelmechanische Parameter untersucht. Die Wirkung von DB-c-AMP auf Anstiegszeit, Erschlaffungszeit und Gesamtdauer der Kontraktion an Vorhofs- und Ventrikelpreparaten ist in den Abbildungen 4, 5 und 6 dargestellt. Aus diesen Abbildungen geht hervor, daß es unter dem Einfluß von DB-c-AMP im Vergleich zu den inotropen Effekten nur zu einer relativ geringen Änderung der Kontraktionszeiten kam, wobei eine Abnahme dieser Parameter überwog.

Der Einfluß der untersuchten DB-c-AMP-Konzentrationen auf die mittlere Anstiegssteilheit (= Anstiegsgeschwindigkeit) und die mittlere Erschlaffungssteilheit (= Erschlaffungsgeschwindigkeit) geht aus den Abbildungen 7 und 8 hervor. Es zeigte sich, daß die positiv inotrope Wirkung von DB-c-AMP immer mit einer Zunahme von Anstiegs- und Erschlaffungsgeschwindigkeit der Kontraktion einhergingen, die - im Gegensatz zu der Wirkung der Substanz auf die Kontraktionszeiten - auch quantitativ der inotropen DB-c-AMP-Wirkung entsprach.

D. DISKUSSION

Die Versuche haben ergeben, daß das Dibutyryl-Derivat des cyclischen 3', 5'-AMP bei den verwendeten Spezies an sämtlichen Ventrikelpräparaten und bei der Mehrzahl der Vorhofspräparate konzentrationsabhängig und reversibel positiv inotrop wirkte.

Somit konnte gezeigt werden, daß eine positiv inotrope Wirkung von DB-c-AMP unter geeigneten Versuchsbedingungen bei zahlreichen Warmblüterspezies gefunden wird, während negativ inotrope Wirkungen nur ausnahmsweise, nämlich an Meerschweinchenvorhöfen auftraten.

Die Frage, warum DB-c-AMP am Vorhofspräparat des Meerschweinchens im Gegensatz zu den Vorhöfen anderer Spezies und auch zum Meerschweinchenventrikel negativ inotrop wirkte, läßt sich nicht ohne weiteres beantworten. Möglicherweise dringt DB-c-AMP an diesem Präparat besonders schlecht in die Herzmuskelzelle ein. Dafür sprechen die Befunde, daß beim Vorhof von leichten Meerschweinchen, bei dem die Penetrationsbedingungen für DB-c-AMP möglicherweise besser sind, diese Verbindung, wenn auch erst in einer Konzentration von $3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, in 3 von 5 Versuchen positiv inotrope Wirkungen hervorrief.

Daß andere Untersucher mit DB-c-AMP keine positiv inotropen Effekte an Warmblüterherzen nachweisen konnten, läßt sich möglicherweise durch Unterschiede in der Versuchsanordnung erklären.

So konnten beispielsweise Robison et al. (1965) keine positiv inotropen Wirkungen von DB-c-AMP am isolierten, perfundierten Rattenherzen finden. Andererseits wiesen Ahren et al. (1971) in der gleichen Versuchsanordnung mit DB-c-AMP bei jungen Ratten (70 - 90 g) positiv inotrope Effekte nach. Die letztgenannten Autoren versuchten diese unterschiedlichen Befunde so zu erklären, daß möglicherweise bei jungen Tieren eine größere Membranpermeabilität der Herzmuskelzellmembran für DB-c-AMP besteht als bei älteren Tieren. Außerdem könnten nach diesen Autoren eine unter-

schiedliche PDE-Aktivität zwischen Herzpräparaten von jungen und älteren Tieren bestehen. Der Befund, daß auch in der vorliegenden Untersuchung an Vorhöfen junger Meer-schweinchen (70 - 120 g) DB-c-AMP ($3 \cdot 10^{-3} \text{M}$) fallweise positiv inotrop wirkte, spricht für die Richtigkeit dieser Erklärung. Warum in der vorliegenden Arbeit auch bei den in vitro suspendierten Herzpräparaten von schweren Ratten (bis 250 g) unter dem Einfluß von DB-c-AMP deutlich positiv inotrope Effekte nachweisbar waren, nicht aber an isolierten, perfundierten Herzen von etwa gleich schweren Ratten (Robison et al., 1965) bleibt erklärungsbedürftig. Möglicherweise sind die Verteilungs- und Penetrationsbedingungen für DB-c-AMP jedoch an dem in der vorliegenden Arbeit verwandten Präparat günstiger als am isolierten, perfundierten Rattenherzen. Insofern wäre das von uns gewählte Versuchspräparat besser geeignet, positiv inotrope Effekte von DB-c-AMP nachzuweisen als z.B. das isoliert perfundierte Rattenherz.

Ein Grund für das Ausbleiben einer positiv inotropen Wirkung am Kaninchenvorhof (Bertelli et al., 1972) könnte in der verwendeten DB-c-AMP-Konzentration zu sehen sein. Bertelli et al. (1972) benutzten an diesem Präparat DB-c-AMP-Konzentrationen bis maximal 10^{-3}M . Auch in der hier vorliegenden Untersuchung wurde eine positiv inotrope Wirkung an diesem Präparat, das relativ wenig empfindlich für DB-c-AMP ist, erst bei einer Konzentration von $3 \cdot 10^{-3} \text{M}$ gesehen.

Insgesamt gesehen lassen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit den Schluß zu, daß DB-c-AMP am Warmblüterherzen generell positiv inotrop wirkt. Eine Ausnahme bildet lediglich der Vorhof, nicht aber der Ventrikel, des Meer-schweinchenherzens.

Ursprünglich war von Sutherland und Robison (1966), die Hypothese aufgestellt worden, daß die positiv inotrope Wirkung z.B. von Adrenalin durch eine Erhöhung der intrazellulären Konzentration an c-AMP zustande kommen könnte.

Folgende Beobachtungen wurden als Stütze dieser Hypothese angesehen:

- a.) Die Adenylzyklase in Herzmuskelzellhomogenaten wird durch Katecholamine aktiviert (Murad et al., 1962; Robison et al., 1965).
- b.) Der c-AMP-Spiegel in intaktem Herzmuskelgewebe wird durch Katecholamine erhöht (Robison et al., 1965; Cheung u. Williamson, 1965; Hammermeister et al., 1965; Drummond et al., 1966).
- c.) Die positiv inotrope Wirkung von Katecholaminen wird durch den Phosphodiesterase-Hemmstoff Theophyllin verstärkt (Rall and West, 1963).

Nicht in Einklang mit der oben genannten Hypothese war die Beobachtung, daß c-AMP die positiv inotrope Wirkung der Katecholamine nicht nachahmt, z.B. Robison et al., 1965. Dieser Befund wurde dadurch zu erklären versucht, daß c-AMP nur schlecht in die Herzmuskeizelle eindringt bzw. im Zellinnern sehr schnell zu 5'-AMP abgebaut wird. (Sutherland et al., 1968).

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung haben ergeben, daß mit dem Dybutyrylderivat des c-AMP die positiv inotrope Wirkung der Katecholamine am Herzen nachgeahmt werden kann. Diese Beobachtung kann als eine weitere Stütze der oben genannten Hypothese angesehen werden.

E. ZUSAMMENFASSUNG

An elektrisch gereizten, isolierten Ventrikel- und Vorhofspräparaten von Mensch, Katze, Kaninchen, Kalb, Schaf, Ratte und Meerschweinchen wurde der Einfluß des Dibutyryl-Derivates des c-AMP auf die Kontraktionskraft untersucht. Dabei wurde DB-c-AMP in Konzentrationen von 10^{-4} bis $5 \cdot 10^{-3} M$ verwandt. Bei den untersuchten Präparaten wirkte DB-c-AMP konzentrationsabhängig und reversibel positiv inotrop. Die Steigerung der Kontraktionskraft ging mit einer Zunahme der Kontraktionsgeschwindigkeit einher, während die Dauer der Kontraktion nur geringfügig durch DB-c-AMP beeinflusst wurde. Lediglich am Vorhof des Meerschweinchens wurde eine überwiegend negativ inotrope Wirkung beobachtet.

Die Befunde werden als Stütze der Sutherland'schen Hypothese angesehen, wonach die positiv inotrope Wirkung von Adrenalin über eine Erhöhung des intrazellulären Gehaltes an c-AMP zustande kommt.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Ahren, K., A.Hjalmarson and O.Isaksson:
Inotropic and metabolic effects of dibutyryl cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in the perfused rat heart.
Acta physiol.scand. 82, 79 - 90 (1971)
2. Bertelli, A., C.Bianchi and L.Beani:
Effects of AMP and cyclic AMP on the mechanical and electrical activity of isolated mammalian atria.
Europ. J.Pharmacol. 19, 130 - 133 (1972)
3. Butcher, R.W. and E.W.Sutherland:
Adenosine 3',5'-phosphate in biological materials
I. Purification and properties of cyclic 3',5'-nucleotide phosphodiesterase and use of this enzyme to characterise adenosine 3',5'-phosphate in human urine.
J.Biol.Chem. 237, 1244 -1250 (1962)
4. Cheung, W.Y. and J.H.Williamson:
Kinetics of cyclic-adenosine-monophosphate changes in rat heart following epinephrine administration.
Nature 207, 979 - 981 (1965)
5. Drummond, G.J., L.Duncan and E.Hertzman:
Effect of epinephrine on phosphorylase b kinase in perfused rat hearts.
J.Biol.Chem. 241, 5899 - 5903 (1966)
6. Entman, M.L., G.S.Levey and S.E.Epstein:
Mechanism of action of epinephrine and glucagon on the canine heart.
Circulation Res. 25, 429 - 438 (1969)
7. Epstein, S.E., G.S.Levey and C.L.Skelton:
Adenyl cyclase and cyclic AMP. Biochemical links in the regulation of myocardial contractility.
Circulation 43, 437 - 450 (1971)
8. Falbriard, G.J., Th.Posternak and E.W.Sutherland:
Preparation of derivatives of adenosine 3',5-phosphate.
Biochim.Biophys.Acta 148, 99 - 105 (1967)

9. Hammermeister, K.E., A.A.Junis and E.G.Krebs:
Studies on phosphorylase activation in the heart.
J.Biol.Chem. 240, 986 -991 (1965)
10. Kukovetz, W.R. and G.Pösch:
Cardiostimulatory effects of cyclic 3',5'-adenosine
monophosphate and its acylated derivatives.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 266, 236 - 254
(1970)
11. Mayer, S.E.:
Role of cyclic AMP in cardiac metabolism and con-
traction.
Proc.Int. Union Physiol. Sciences 8, 131 - 132 (1971)
12. Meinertz, T., H.Nawrath und H.Scholz:
Über die positiv inotrope Wirkung von Dibutyryl-
3',5'-AMP an isolierten Rattenvorhöfen.
Pflügers Arch. 333, 197 - 212 (1972)
13. Murad, F., Y.M.Chi, T.W.Rall and E.W.Sutherland:
Adenyl Cyclase III.
Effect of catecholamines and choline esters on the
formation of adenosine 3',5'-phosphate by preparations
from cardiac muscle and liver.
J.Biol.Chem. 237, 1233 (1962)
14. Nayler, W.G.:
Calcium exchange in cardiac muscle: a basic mechanism
in drug action.
Amer.Heart J. 73, 379 - 394 (1967)
15. Posternak, Th., E.W.Sutherland and W.F.Henion:
Derivatives of cyclic 3',5'-adenosine monophosphate.
Biochim.Biophys. Acta 65, 558 - 560 (1962)
16. Rall, T.W. and T.C.West:
The potentiation of cardiac inotropic responses to
norepinephrine by theophylline.
J.Pharmacol. exp. Ther. 139, 269 - 274 (1963)
17. Robison, G.A., R.W.Butcher, I.Oye, H.E.Morgan and
E.W.Sutherland:

- The effect of epinephrine on adenosine 3',5'-phosphate levels in the isolated perfused rat heart.
Mol. Pharmacol. 1, 168 - 177 (1965)
18. Robison, G.A., R.W.Butcher and E.W.Sutherland:
Cyclic AMP
Ann. Rev. Biochem. 37, 149 -174 (1968)
19. Robison, G.A., I.Oye, H.E.Morgan and E.W.Sutherland:
The effect of epinephrine on adenosine 3',5'-phosphate levels in the isolated perfused rat heart..
Molec.Pharmacol. 1, 168 - 177 (1965)
20. Skelton, C.L., G.S.Levey and S.E.Epstein:
Positiv inotropic effects of dibutyryl cyclic adenosine 3',5'-monophosphate.
Circulat.Res. 26, 35 - 43 (1970)
21. Sutherland, E.W. and G.A.Robison:
The role of cyclic 3',5'-AMP in response to catecholamines and other hormones.
Pharmacol.Rev. 18, 145 - 161 (1966)
22. Sutherland, E.W., G.A.Robison and R.W.Butcher:
Some aspects of the biological role of adenosine 3',5'-monophosphate (Cyclic AMP).
Circulation 37 , 279 - 305 (1968)

Für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit danke ich Herrn Dr.T.Meinertz und Herrn Dr.H.Nawrath sehr herzlich.

Für die Hilfe und Ratschläge bei der Durchführung der Versuche und für die Anfertigung der Zeichnungen möchte ich Fräulein Barbara Schmelzle, Fräulein Felicitas Schulz und Fräulein Hildegard Seufert meinen besten Dank aussprechen. Ebenso danke ich Frau Hella Steinbrunn für die Anfertigung der Photographien.

Lebenslauf

Am 11.7.1946 wurde ich als erstes Kind meiner Eltern Karl Winter und seiner Ehefrau Gertrud Winter, geb. Hübner in Glanbrücken, Kreis Birkenfeld geboren.

In Kusel besuchte ich die Volksschule bis zur vierten Klasse und anschließend das Staatl. Gymnasium, wo ich 1966 das Abitur ablegte. Anschließend begann ich das Studium der Medizin an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz. Hier legte ich 1972 die ärztliche Prüfung ab. Seit August 1972 bin ich am Pharmacologischen Institut der Universität Mainz als Medizinalassistent tätig.

